

印楝素对昆虫的毒理作用机制

李晓东 赵善欢

(华南农业大学昆虫毒理研究室, 广州, 510642)

摘要 印楝素对许多种昆虫具高效的拒食、胃毒、触杀及抑制生长发育的作用。其作用机制主要是扰乱昆虫的内分泌。作用靶标为神经分泌细胞、心侧体、前胸腺等, 影响促前胸腺激素 (PTTH) 的合成与释放, 减低前胸腺对 PTTH 的感应而造成 20-羟基蜕皮酮合成、分泌的不足, 致使昆虫变态、发育受阻。印楝对其他一些与变态激素的合成、释放相关的组织的作用, 在该文也有讨论。

关键词 印楝素; 内分泌; 促前胸腺激素 (PTTH); 心侧体; 前胸腺

中图分类号 S482.39

印楝素 (azadirachtin) 是从印楝 (*Azadirachta indica*) 种子中分离提纯而来的柠檬素类 (limonoid) 化合物, 属四环三萜类物质。最早分离出纯品是在 1968 年 (Butteworth et al, 1968), 证实它对沙漠蝗 (*Schistocerca gregaria*) 有强烈拒食活性, 随后被命名为印楝素。以后的研究证实其对许多种农业害虫具高生物活性, 印楝在世界范围得到关注, 在 1980 ~ 1994 年先后召开过 4 次国际印楝会议, 有关印楝素生物活性及作用机制的研究报道不计其数。本文现将有关作用机制的研究做个综述。

1 印楝素的生物活性

印楝素对 200 多种昆虫具有其他植物杀虫剂无法比拟的高生物活性, 里面包括了几乎所有的重要农业、卫生害虫。其主要的的作用有以下几个方面。

(1) 强烈的拒食作用。直接的拒食或因印楝素处理使取食量减少或不食导致昆虫死亡, 作用的靶标为口器部分 (Schmutterer, 1985)。

(2) 有效地扰乱昆虫的胚后发育。通过扰乱昆虫的内分泌, 使得幼虫蜕皮、化蛹不正常, 导致死亡 (Butterworth, 1968; Leuschner, 1972; Schluter et al, 1985)。

(3) 有效的绝育作用。有相当一些种昆虫受处理后出现很高的绝育率, 受处理后的雌虫生命期延长, 食量低, 产卵力下降 (Schmutterer, 1987)。

(4) 在不干扰昆虫蜕皮的剂量下处理昆虫, 其适应性降低。如大马利筋长蝽 (*Oncopeltus fasciatus*) 雄虫不能交配 (Dorn, 1986); 地中海实蝇雌虫 (*Ceratiti capitata*) 不能识别雄性激素 (Steffens et al, 1982)。

1995-04-19 收稿

2 印楝素对昆虫内分泌系统的作用

众多的研究表明,印楝素的杀虫效用最主要是由于印楝素扰乱昆虫的内分泌活动,从而干扰昆虫的正常发育进程,最终死亡。这种扰乱作用,是建立在整个相互协调,相互作用的内分泌系统基础上的一种综合作用,而非单就某一靶标而言。但其作用的靶标器官主要集中在脑、心侧体、前胸腺等。

2.1 脑

昆虫生长发育所需的主要激素蜕皮激素、保幼激素的合成,分泌都是由脑神经分泌细胞合成,分泌的 PTTH 通过分泌时间与分泌量来调节。昆虫脑作为生长发育的控制中枢,对昆虫的变态发育至关重要。印楝素处理亚洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis*),其大脑有萎缩现象(赵善欢等,1984)。以 [^3H]-dihydroazadirachtin - A 处理飞蝗 (*Locusta migratoria*) 若虫,在其脑神经分泌系统脑纤维积累大量的三聚乙醛洋红 (PAF)。此物质对脑神经分泌颗粒 (PTTH 的载体) 着色。这表明印楝素对脑神经分泌颗粒的合成或释放具抑止作用。而且放射标记表明印楝素不能突破血脑屏障,只能分布于其周缘 (Rembold, 1989; Subrahmanyam et al, 1989), 因此,印楝素是间接作用于脑。

PTTH 是由昆虫间脑的几群脑神经分泌细胞合成与释放的。既然印楝素不能穿过血脑屏障渗入脑内,那么对 PTTH 合成的直接影响应该不存在。而且,印楝素对家蚕脑抽提物 22K-PTTH 进行离体处理,并无直接作用 (Koul, 1987)。用 L- [^{35}S] 半胱氨酸标记脑神经分泌蛋白 (PTTH 前体) 的方法也证实印楝素并不直接干扰昆虫脑对脑神经分泌蛋白的合成 (Subrahmanyam, 1989), 只是间接影响其合成量。从上述事实来看,似乎可以推论: 印楝素对脑神经分泌细胞合成 PTTH 的抑止是间接的,其作用方式还不得而知;但明显阻碍 PTTH 从脑中的释放。例如在对吸血蜡蛾 (*Rhodnius prolixus*) 头部移植实验中,于头临界期 (Head Critical Period) 也即 PTTH 释放临界期之前去头,将印楝素处理试虫的头移植到未处理试虫的虫体,结果不能维持 PTTH 的释放 (Garcia, 1984)

2.2 心侧体及咽侧体

昆虫脑神经分泌细胞有轴突横穿心侧体终止于咽侧体。咽侧体为 PTTH 的神经血器官,心侧体的外围细胞是来源于脑神经分泌细胞的全atotropin 的释放部位。此激素可以激发咽侧体合成保幼激素。

以印楝素处理的飞蝗 (*L. migratoria*) 若虫,印楝素包围整个心侧体,较多地集中于心侧体的贮存叶突 (storage lobes) 的神经分泌轴突 (Rembold et al, 1988)。由于印楝素的作用,由脑释放到心侧体的脑神经分泌蛋白在心侧体中的“转换” (turnover) 变得不足,致使脑神经分泌蛋白大量积累,释放受阻。这就影响变态激素合成。不仅如此,印楝素作用于心侧体外围细胞的 allatotropin 释放,从而可能影响到由该激素激发咽侧体合成保幼激素的能力。

关于印楝素对咽侧体生理的直接作用,目前还没有报道。但作为 PTTH 的释放部位,由于印楝素阻碍 PTTH 的释放这一事实不容否认,故印楝素对咽侧体是否有直接或间接的影响,还值得进一步研究。而且印楝素处理的飞蝗若虫保幼激素滴度下降 (Rembold et al, 1987), 这与咽侧体受印楝素作用不无关系。

2.3 前胸腺

印楝素对内分泌系统的影响,最终归结到前胸腺上。前胸腺受印楝素作用,合成、分泌

蜕皮激素受干扰,导致幼虫发育变态受阻。

亚洲玉米螟饲喂拌有印楝素的人工饲料后,前胸腺细胞肿胀肥大(赵善欢等,1984)。这势必影响其生理功能。用印楝素处理离体的家蚕(*Bombyx mori*)和美洲菸夜蛾(*Heliothis virescens*)末龄幼虫的前胸腺,结果无直接影响(Koul,1987;Barnby et al,1990)。相反,将丽蝇(*Calliphora vicina*)的脑-环腺复合体与前胸腺离体培养,用印楝素处理,其蜕皮甾类滴度显著低于对照(Bidmon,1987)。该实验证明是印楝素阻碍 PTTH 的释放而使前胸腺不能被激活,导致蜕皮甾类的分泌减少。已有不少研究认为受印楝素作用的前胸腺对 PTTH 的感受性降低,是否上述两方面原因都存在呢?答案应该是肯定的。这是一种综合作用。但必须明确,印楝素对前胸腺的作用涉及时间问题。如果处理时间迟于头临界期(HCP),此时前胸腺已被 PTTH 激活,则印楝素对昆虫的发育变态无作用了。这在对家蚕末龄幼虫的研究中已得到证实(Koul,1987)。

2.4 脂肪体

脂肪体在昆虫内分泌调节上也起着重要作用。在美洲棉铃虫(*Heliothis zea*)蜕皮甾类的合成必须有 PTTH 与脂肪体血淋巴因子(Fatbody Haemolymph Factor,FHF)——脂肪体抽提物中的肽类的存在,此因子引发其他组织制造或释放前胸腺合成蜕皮甾类所需物质(Rosemary et al,1987)。在烟草天蛾(*Manduca sexta*)中,脂肪体因子与血淋巴刺激因子(Haemolymph Stimulatory Factor)都可激发离体的前胸腺合成蜕皮甾类(Watson et al,1985)。印楝素处理后,脂肪体颗粒变得粗大,整体形态呈融蜡状(赵善欢等,1984)。被处理的前胸腺合成蜕皮甾类能力下降,可能与脂肪体因子的缺乏相关。另外,蜕皮甾类由前胸腺释放至血淋巴需转换为 20-羟基蜕皮酮才具活性,此过程要在脂肪体内经一系列酶的作用来完成,印楝素则干扰其转化的水解化过程,这涉及对至少一种酶系的干扰(Bidmon et al,1987)。

3 总结

纵观印楝素对昆虫的各种生理作用的研究,目前可以得出以下的结论:印楝素直接地或间接地通过破坏昆虫口器的化学感受器产生拒食作用;通过对中肠消化酶的作用使得食物的营养转换不足,影响昆虫的生命力;高剂量直接杀死试虫,低剂量则致使出现“永久性”幼虫;或畸形蛹、成虫,原因是扰乱了昆虫的内分泌激素的平衡,途径是抑止脑神经分泌细胞对 PTTH 的合成与释放,影响前胸腺对蜕皮甾类的合成和释放,和咽侧体对保幼激素的合成与释放。昆虫血淋巴内保幼激素正常滴度水平的破坏同时使得昆虫卵成熟所需的卵黄原蛋白合成不足而导致绝育。

作为昆虫生长调节剂(Insect Growth Regulator)的印楝素,主要是通过对昆虫内分泌活动的扰乱而影响昆虫的生长发育,这一点已得到广泛的肯定。但是,关于印楝素毒理作用的分子生物学解释,具体的作用靶标,以及对昆虫内分泌活动的系统性影响等研究,目前还处于模糊阶段。比如,明确了印楝素降低昆虫的蜕皮甾类滴度,但原因是抑制了 PTTH 的滴度水平还是减低了前胸腺对 PTTH 的感受性,抑或两者兼而有之,则无法确定。有关这些方面的研究,昆虫学家们正在努力。

参 考 文 献

- 赵善欢, 张 兴, 刘秀琼, 等. 1984. 印楝素对亚洲玉米螟幼虫生长发育的影响. 昆虫学报, 37(3): 241~247
- Barnby M A, Klocke J A. 1990. Effect of azadirachtin on levels of ecdysteroid and prothoracicotropic hormone-like activity in *Heliothis virescens* larvae. J Insect Physiol, 36: 125~131
- Bidmon H J, Kauser G, Mobus D, et al. 1987. Effects of azadirachtin on blowfly larvae and pupae. In: Schmutterer H, Ascher K R S eds. Natural pesticides from the Neem Tree and Other Tropical plants. Eschborn: GTZ, 253~271
- Butterworth J H, Morgan E D. 1968. Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts. J Chem Commun, 23~24
- Dorn A. 1986. Effects of azadirachtin on reproduction and egg development of the heteropteran *Oncopeltus fasciatus* Dallas. Z Angew Entomol, 102: 313~319
- Garcia E S, Rembold H. 1984. Effects of azadirachtin on ecdysis of *Rhodnius prolixus*. J Insect Physiol, 12: 939~941
- Koul O, Amanai K, Ohtaki T. 1987. Effects of azadirachtin on the endocrine events of *Bombyx mori*. J Insect Physiol, 33: 103~108
- Leuschner K. 1972. Effect of an unknown substance on a shield bug: Naturwissenschaften, 59: 217
- Rembold H, Forster H, Czoppelt Ch. 1987. Structure and biological activity of azadirachtin A and B. In: Schmutterer H, Ascher K R S, eds. Natural pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants. Eschborn: GTZ, 149~160
- Rosemary G, Roger M, Holman G M. 1987. Fatbody stimulation of ecdysone synthesis in *Heliothis zea*. J Insect Physiol, 33(5): 325~331
- Rembold H, Muller T, Subrahmanyam B. 1988. Tissue specific incorporation of azadirachtin in the Malpighian tubules of *Locusta migratoria*. Z Naturforsch, 43c: 903~907
- Rembold H, Subrahmanyam B, Muller T. 1989. *Carpus cardui*—a target for azadirachtin. Experientia, 45: 361~363
- Schluter V, Bidmon H J, Grewe S. 1985. Azadirachtin affects growth and endocrine events in larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. J Insect Physiol, 31: 773~777
- Schmutterer H. 1987. Fecundity-reducing and sterilizing effects of neem seed kernel extracts in Colorado potato beetle, *Lepidotarsa decemlineata*. In: Schmutterer H, Ascher K R S, eds. Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants. Eschborn: GTZ, 351~360
- Subrahmanyam B. 1989. Inhibition of turn over neurosecretion by azadirachtin in *Locusta migratoria*. J Insect Physiol, 35(6): 493~500
- Subrahmanyam B, Rembold H. 1989. Effect of azadirachtin—A of neuroendocrine activity in *Locusta migratoria*. Cell Tissue Res, 256: 513~517
- Steffens R, Schmutterer H. 1982. The effect of a crude methanolic neem seed kernel extract on metamorphosis and quality of adults of the mediterranean fruit fly, *Ceratiti capitata*. Z Angew Entomol 14: 98~103
- Watson R D, Ciancio M J, Gunnar W P, et al. 1985. Regulation of insect prothoracic glands: existence of a haemolymph stimulatory factor in *Manduca sexta*. J Insect Physiol, 31: 487~494

THE TOXIC EFFECTS AND MODE OF AZADIRACHTIN ON INSECTS

Li Xiaodong Zhao Shanjuan*

(Lab. of Insect Toxicology, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Azadirachtin has effects of antifeeding, stomach poison, contact poison, and growth inhibition on many insects. The main mode is disruption of endocrine activities in insect. Azadirachtin attacks neurosecretory cells, corpus cardiacum prothoracic glands, etc., causing interruption of synthesis and release of prothoracicotropic hormone (PTTH) in brain, and reduction of receptivity of prothoracic glands to PTTH which accounts for the shortage of 20-hydroxyecdysone in synthesis and release. For these reasons, growth and metamorphosis of insects were disturbed. The effects of azadirachtin on other tissues relative to synthesis and release of hormones for metamorphosis were also discussed in this paper.

Key words azadirachtin; endocrine; prothoracicotropic hormone (PTTH);
corpus cardiacum; prothoracic gland

* Chiu Shin-Foon